

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学号: 200326125

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

TAB1 与 p38 α 特异性相互作用的决定因素
Determinants that Control the Specific Interactions between
TAB1 and p38 α

谢 琳 娜

指导教师姓名: 韩家淮 教授

专 业 名 称: 生化与分子生物学

论文提交日期: 2006 年 4 月 26 日

论文答辩时间: 2006 年 6 月 9 日

学位授予日期: 2006 年 月

答辩委员会主席: 吴乔 教授

评 阅 人: _____

2006 年 6 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

摘 要

细胞内的信号转导途径调节细胞对于来自胞内外刺激的反应。丝裂原活化蛋白激酶信号转导途径是真核生物中普遍存在的信号转导机制之一，三级激酶级联反应是其通路的核心成份。然而 2002 年 Ge 等发现 TAB1 所介导的 p38 α 自我磷酸化反应打破了传统的 MAPK 家族只能通过三级激酶的磷酸化途径来激活的观念，这一直接激活机制，成为 MAPK 激活机制的一个有力补充。此外，TAB1 与 p38 α 的相互作用在 p38 家族中是十分特异的。因而确定 TAB1 和 p38 α 相互作用必需区域氨基酸的序列将有助于对这一令人感兴趣的蛋白-蛋白相互作用的分子机制的理解。

本论文分析了 TAB1 的缺失突变体和点突变体与 p38 α 的相互作用，发现其羧基末端的脯氨酸残基 (Pro412) 是与 p38 α 结合的必需位点，并进一步发现 Pro412 氨基末端存在一个貌似“D-结构域”的结合位点，而 Pro412 正好处于结合位点的 Φ_B+3 的位置。通过突变体分析，我们发现以前报道的 p38 α 中的疏水结合槽也与该相互作用有关，而 CD 结构域 和 ED 位点却与之无关。同时，用不与 TAB1 相互作用的 p38 β 和 p38 α 构建嵌合拼接体，发现 Thr218 和 Ile275 是 p38 α 特异性结合于 TAB1 的重要位点。并且将其中的任何一个残基置换为 p38 β 的相应氨基酸都会阻止 p38 α 和 TAB1 结合。当 p38 α 的底物和激活物与 p38 α 结合时，结合位点 (p38 α 的疏水结合槽) 发生了较大的构象改变，而 Thr218 和 Ile275 恰在这个位置附近，这提示我们 TAB1 诱导 p38 α 自我磷酸化也可能是由于 p38 α 发生了类似于 p38 α 与其底物或激酶相互作用时引起的独特的构象变化。

关键词：TAB1； p38 α ； 相互作用

ABSTRACT

Intracellular signal transduction pathways regulate cellular responses to physiological and nonphysiological stimuli. The mitogen-activated protein kinases (MAPKs) play an important role in a variety of biological processes. MAPK kinases are in turn activated by phosphorylation by the MAPK kinase kinases (MAPKKKs). Ge *et al.*(2002) showed that there is another way to activate the so-called stress-activated MAPK known as p38 α . They have revealed that TAB1 interacts with p38 α and induces p38 α autophosphorylation. Therefore, the determination of binding sequence of TAB1 and p38 α is critical for us to know the interesting protein-protein interaction between them.

Here, we examined the sequence requirements in TAB1 and p38 α that drive their interaction. Deletion and point mutations in TAB1 reveal that a proline residue in the C terminus of TAB1 (Pro412) is necessary for its interaction with p38 α . Furthermore, a cryptic D-domain like docking site was identified adjacent to the N terminus of Pro412, putting Pro412 in the Φ_B+3 position of the docking site. Through mutational analysis, we found that the previously identified hydrophobic docking groove in p38 α is involved in this interaction, whereas the CD domain and ED site are not. Furthermore, chimeric analysis using TAB1 non-binding p38 β , revealed a previously unidentified locus of p38 α comprising Thr218 and Ile275 that is essential for specific binding of p38 α to TAB1. Converting either of these residues to the corresponding amino acid of p38 β abolishes p38 α interaction with TAB1. Adjacent to Thr218 and Ile275 is a site where large conformational changes occur in the presence of docking-site peptides derived from p38 α substrates and activators. The results suggest that TAB1-induced autophosphorylation of p38 α results from conformational changes that are similar but unique to those seen in p38 α interactions with its substrates and activating kinases.

Key Words: TAB1; p38 α ; Interaction

目 录

摘 要.....	I
ABSTRACT	II
中文目录.....	III
英文目录.....	V
1 前 言	1
1.1 MAPK 信号转导途径简介.....	1
1.2 p38 信号通路是 MAPK 级联通路中的一条分支.....	4
1.2.1 p38 的发现及亚型	4
1.2.2 p38 MAPK 的结构特征.....	5
1.2.3 p38 信号通路的调节	6
1.2.4 p38 信号通路和其它转导途径之间的相互联系	10
1.2.5 p38 的生物学功能 ^[26]	10
1.2.6 小结	11
1.3 TAB1 是一种重要的构架蛋白	11
1.3.1 TAB1 的发现.....	11
1.3.2 TAB1 与 TAK1 的相互作用.....	12
1.3.3 TAB1 也能直接与 p38 相互作用.....	13
1.4 本论文的研究目的与意义	14
2 材料和方法.....	16
2.1 常用药品和试剂	16
2.2 DNA 相关实验方法	16
2.2.1 质粒载体:	16
2.2.2 大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i>)感受态细胞的制备和 DNA 转化.....	17
2.2.3 质粒 DNA 的提取	18
2.2.4 质粒 DNA 的工具酶处理	20
2.2.5 纯化 DNA 片段	21
2.2.6 DNA 连接反应	22
2.2.7 PCR 相关实验.....	22

2.2.8 哺乳动物细胞表达质粒的构建	23
2.3 细胞培养及转染	31
2.3.1 细胞培养	31
2.3.2 瞬时转染	32
2.4 蛋白质相关实验方法	32
2.4.1 免疫共沉淀	32
2.4.2 蛋白质的 SDS-PAGE 电泳与 Western blot 分析	33
2.4.3 圆二色性光谱分析	34
3 结果与讨论	35
3.1 结果与分析	35
3.1.1 TAB1 上的 Pro412 是 TAB1 与 p38 α 结合的重要位点	37
3.1.2 TAB1 相互作用区域与 MKK3 和 MEF2A 的结合区域相似	39
3.1.3 CD 结构域和 ED 位点并非 p38 α -TAB1 相互作用所必需的	41
3.1.4 p38 α 羧基末端结构域上的 2 个区域是其与 TAB1 结合所必需的	43
3.1.5 Thr218 在 p38 α -TAB1 相互作用中起了重要作用	44
3.1.6 Ile 275 对于 p38 α -TAB1 相互作用来说很重要	46
3.1.7 将 p38 β 上的 Thr218 和 Ile275 替换成 p38 α 上的序列会导致 p38 β 具有与 TAB1 较弱的相互作用	48
3.2 总结与讨论	51
附录 1: 图表索引 1	51
附录 2: 缩略语及中英文对照 3	53
参考文献:	56
在学期间发表论文	61
致谢	62

CONTENTS

ABSTRACT (IN CHINESE)	I
ABSTRACT (IN ENGLISH)	II
CONTENTS (IN CHINESE)	III
CONTENTS (IN ENGLISH)	V
1 Introduction	1
1.1 Introduction of MAPK signal transduction pathway	1
1.2 p38 signaling pathway is one of the four in MAPK pathways	4
1.2.1 Discovery and subgroup of p38	4
1.2.2 Structure characteristic of p38	5
1.2.3 Regulation of p38 signaling pathway	6
1.2.4 Crosstalk of p38 pathway with other transduction pathways	10
1.2.5 Biological consequences of p38 activation	10
1.2.6 Summary	11
1.3 TAB1 is an important scaffolding protein	11
1.3.1 Discovery of TAB1	11
1.3.2 Interaction of TAB1 with TAK1	12
1.3.3 Interaction of TAB1 with p38 α	13
1.4 Objective and significance of this experiment	14
2 Materials and Methods	16
2.1 Chemicals and reagents	16
2.2 Construction of plasmids	16
2.2.1 Vectors	16
2.2.2 <i>E. coli</i> competent cells and DNA transformation	17
2.2.3 DNA preparation	18
2.2.4 Enzymatic manipulation of plasmid DNA	20
2.2.5 Purification of DNA fragment	21
2.2.6 DNA ligation	22
2.2.7 Polymerase chain reaction	22
2.2.8 Construction of plasmids expressed in mammalian cells	23
2.3 Cell culture and DNA transfection	31

2.3.1 Cell culture	31
2.3.2 Transient transfection	32
2.4 Protein assay	32
2.4.1 Immunoprecipitation.....	32
2.4.2 Electrophoresis of protein in SDS-PAGE gel and Western blot.....	33
2.4.3 CD spectroscopy	34
3 Results and Discussion.....	35
3.1 Results and analysis.....	35
3.1.1 Proline 412 in TAB1 is required for TAB1 to bind to p38 α	37
3.1.2 A kinase interaction motif similar to the docking sites in MKK3 and MEF2A appears to exist in TAB1.....	39
3.1.3 CD and ED domains are not required for p38 α -TAB1 interaction	41
3.1.4 Two regions in the C-terminal domain of p38 α are required for its binding to TAB1.....	43
3.1.5 Thr218 is critical for p38 α -TAB1 interaction	44
3.1.6 Ile 275 is critical for p38 α -TAB1 interaction	46
3.1.7 Converting residues 218 and 275 in p38 β into corresponding amino acids of p38 α leads to weak p38 β -TAB1 interaction	48
3.2 Conclusion and discussion.....	51
APPENDIX 1: LIST OF FIGURES AND TABLES.....	51
APPENDIX 2: ABBREVIATIONS	53
REFERENCES	56
PUBLICATIONS	61
ACKNOWLEDGEMENTS	62

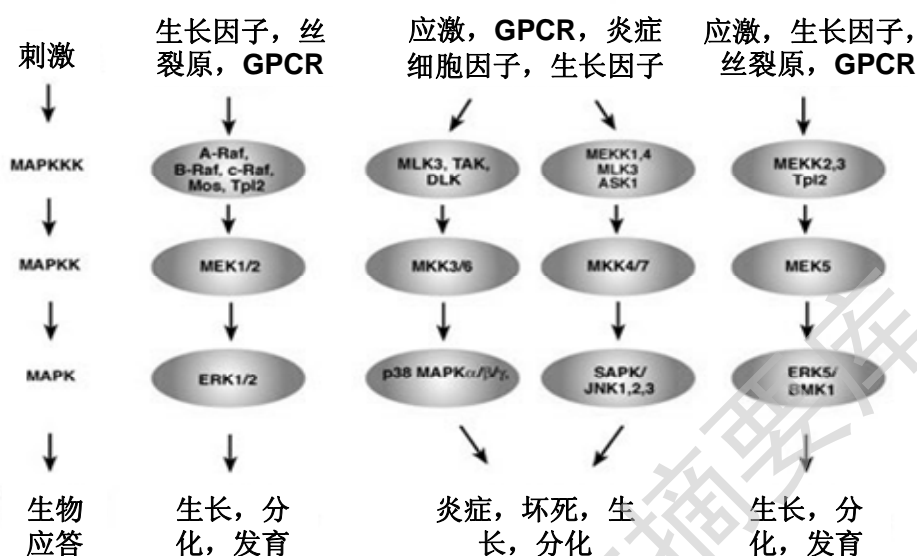
1 前言

1.1 MAPK 信号转导途径简介

信号是生物之间互通消息的一种最基本,最原始也最重要的方式。生物的生命活动离不开信号。生物的细胞每时每刻都在接触着来自细胞内或者细胞外的各种信号。细胞内进行着各种各样的生理活动,包括细胞的生长,分化和凋亡,这些生理活动正是受到许多胞外信号的精密调控。信号的类型、强度和持续时间被有效的传递到胞内,经过整合和加工,并最终导致一系列特异的生理生化反应。可以说细胞的一切生命活动都与信号有关,信号是细胞一切活动的始作俑者。因此,对信号转导的研究非常重要。

细胞内的信号转导途径调节细胞对体内外刺激的反应。特异的蛋白-蛋白相互作用确立了其信号转导途径的效率及其稳定性。

MAPK (mitogen-activated protein kinases, 丝裂原激活蛋白激酶)信号转导途径是真核生物中普遍存在的重要信号机制之一,它将受体信号转化成各种各样的输出信号。这条途径包括三个胞质内级联激酶:分别为丝裂原激活的蛋白三重激酶 (MAP kinase kinase kinase, MAPKKK或MKKK又称MEKK)、二重激酶 (MAP kinase kinase, MAPKK或MKK又称MEK)和 MAPK。在生物进化过程中,这三级激酶级联高度保守^[1],细胞受到刺激后,MAPKKK接受到从跨膜受体传来的信号,被磷酸化激活,MAPKKK 转而磷酸化激活 MAPKK,而激活的 MAPKK 通过对特定苏氨酸和酪氨酸双位点的磷酸化激活 MAPK^[2, 3],即 MAPKKK→MAPKK→MAPK。当被活化的 MAPK 将其胞质内蛋白底物的丝氨酸-苏氨酸残基磷酸化后,磷酸化的蛋白底物从细胞质转移到细胞核内,调控转录因子的活性,从而控制基因表达(图1)。



引自生物谷网站

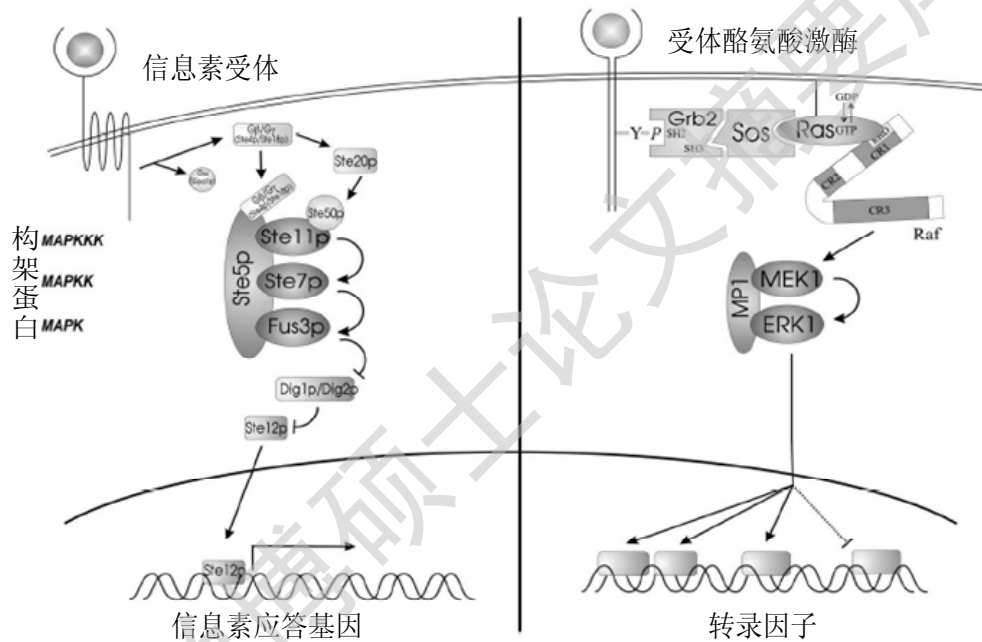
图1 细胞中由三个级联激酶组成的MAPK信号通路

Fig1 MAPK signaling transduction pathway

其中 MAPKKK 是一种丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶，它在不同种类不同通路中有不同名称。例如哺乳动物中的 MEKK1-4，它们都具有羧基末端催化功能域和氨基末端调控功能域，而酵母中则是 Ste11p 和 Byr2p。另外 Raf-1, A-Raf, B-Raf 和 MOS 是 ERK(extracellular signal regulated protein kinase, 细胞外信号调节蛋白激酶)通路中的 MAPKKK^[4,5](图2)，MAPKKK家族的成员还包括 MTK1, MLK1-3, DLK/MUK, ASK1, Tpl-2/Cot 以及 TAK1 (transforming growth factor- β -activated protein kinase 1, 转化生长因子 β 激活的蛋白激酶 1)，它们能够磷酸化 JNK (c-Jun amino-terminal kinase, c-Jun氨基末端激酶) 或 p38^[6-9]。而 MAPKK 家族成员包括MEK1-7。

MAPK 有四条信号转导通路，包括 ERK、JNK/应激活化蛋白激酶 (Stress-activated protein kinase, SAPK), ERK5/BMK1(big MAP kinase 1) 和 p38 丝裂原激活活蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)四个亚族^[1-10]。MAPKs 是相当保守的，它们之间存在着约有 60—70%的同源性，但在活化区域的序列和长度及某些关键性结构上存在差异，这些差异是不同亚族对不同的细胞外刺激产生特异性反应的结构基础。细胞内每条 MAPK 信号转导通路都具有相对独立的功能，这些 MAPK 介导了物理、化学应激、细菌产物、炎症细

胞因子等多种刺激引起的细胞反应^[11-15]。MAPK 的激活, 需要双位点, 即苏氨酸和酪氨酸同时被磷酸化。研究发现, 所有已知的 MAPK 中都含有双磷酸化位点 Thr-Xaa-Tyr(TXY), 这两个邻近的磷酸化位点中间被一个氨基酸隔开, 形成三肽模块 T-Xaa-Y, 不同的 MAPK 亚族成员, 三肽模块的中间的X残基氨基酸不同^[16]。所有的 p38 家族成员都有这个双磷酸化区域, 为 TGY 结构域, 而 ERK1/2 和 ERK5/BMK1 有一个 TEY 结构域, JNK/SAPK 则有一个 TPY 结构域。



引自 [17], 厦门大学 士学位论文 Axin 激活 JNK 的结构基础和分子机制 p26

图 2 酵母和哺乳动物细胞中的 MAPK 通路

Fig 2 Different MAPK pathways in yeast and mammalian cells

尽管 MAPK 级联反应信号通路中的大部分分子的调节反应均与其是否被磷酸化有关, 但另一方面, 在某些特异的通路中, 构架蛋白通过与一些复合物结合的方式来调节信号途径, 也同样对 MAPK 级联反应起了重要影响。也就是说尽管激酶级联反应是 MAPK 家族的主要激活机制, 但仍然存在不依赖于该机制的活化反应。就如 MAPK 家族成员与 TAB1 (TAK1 binding protein 1, TAK1 结合蛋白 1) 相互作用或在酪氨酸激酶 Zap70^[17, 18]作用下磷酸化 Tyr323 位点, 从而引起 MAPK p38 α 自我磷酸化, 这说明至少在 p38 α 中, 自主活化是 MAPK 活化的另一种活化机制, 这种激活机制成为传统的 MAPKs 级联传导途径的一个重要补充。

MAPK 能与它们的底物和酶相互作用，而其结合位点却与其激活位点不同^[19-21]。当前，在 MAPK 的底物及其激活蛋白上到了“D-结构域”，它与 MAPKs 上的疏水结合槽相互作用^[22-25]。D-结构域肽段有一个含疏水亚基的保守结构模块 $(\text{Arg/Lys})_2\text{-(X)}_{2-6}\text{-}\Phi_A\text{-X-}\Phi_B$ 。在晶体实验中，发现它能结合于 MAPK 的羧基末端结构域的疏水槽，并且在 JNK1 和 JIP 结合时也发生类似的相互作用。在其他文献报道的突变分析实验中也确认了这一结合位点，并且它与有电（如 p38 α 中的 Asp313, Asp315, Asp316）且被称为“CD (Common docking)”的结构域相邻。在 p38 的底物和激活蛋白上的 D-结构域肽段同时存在时的晶体结构图中，可以观察到激活唇(activation lip)构象受到影响而发生了改变。这说明结合位点的相互作用，除了决定激酶结合的专一性外，也能在激活过程中发挥重要的作用。

我们的研究主要致力于 p38 信号通路中 p38 α 与 TAB1 的相互作用，因而下面就 p38 MAPK 信号通路进行简要综述。

1.2 p38 信号通路是 MAPK 级联通路中的一条分支

p38 信号通路和其它的 MAPK 级联通路之间有着许多的相似之处。p38 在介导炎症、应激等多种细胞反应中起着重要的作用，是近年来信号转导领域的研究热点之一^[26-28]。

1.2.1 p38 的发现及亚型

p38 α ，也被写成 p38(本文中 p38 指 p38 家族成员)，是一个被分离出来的分子量为 38 kD 的 p38 家族成员。1993 年，Han 等在研究巨细胞和前 B 细胞对 LPS (lipopoly saccharide, 细菌脂多糖)刺激反应发生酪氨酸磷酸化的蛋白质，发现除了已往鉴定过的 ERK1 和 ERK2 这两个蛋白外，还有另一个分子量约为 38kD 的蛋白；1994 年，他们从小 cDNA 文库中筛选到编码这个蛋白的克隆，并依据其分子量大小命名为 p38，同时发现它与酵母 (*S. cerevisiae*) HOG 1 基因编码的蛋白非常相似，其同源性的 52.3%。HOG1 是一种高反应调节蛋白，当酵母生存在高渗透压时 HOG1 通路被激活，导致甘油合成增加。合成的甘油可作为渗透压调节因素以对抗细胞外高渗透压，使酵母在高渗透压条件下仍可生长。而将 p38 α 导入 HOG1 突变的酵母细胞内可代替 HOG1 的功能，使其可在高渗透压中生存，说明 p38 α 是 HOG1 在哺乳动物中的对应物，

也是 MAPK 家族成员之一^[26]。它不仅可以在 LPS 的刺激下被磷酸化, 在 IL-1 和亚 酸 刺激的通路中 p38 α 还可作为 MAPKAPK-2 (MAP kinase-activated protein kinase2, MAPK 激活的蛋白激酶 2, 又称 MK2) 的上游调节物。另外, p38 α 是 异 类化合物 (如: SB203580) 的 分子, 这类化合物能抑制单核细胞产生细胞因子 IL-1(interleukin-1, 白细胞介素 1) 和 TNF- α (tumor necrosis factor- α , 肿瘤坏死因子)。因而, 依据 p38 α 能与 CSAID (cytokine-suppressive anti-inflammatory drug, 细胞因子抑制抗炎药物) 结合的特点, p38 α 也被称为 CSBP1/2 (CSAID binding protein 1 and 2, CSAID 结合蛋白 1/2)^[29]。

ERK 亚族有多个亚型, 据此推测 p38 可能也存在其他亚型。Han 研究小组先后发现并克隆了三个 的 p38 亚型: p38 β 、p38 γ 、p38 δ , 其 cDNA 分别编码了 372、367 和 366 个氨基酸残基的多肽(表 1)。这三个 成员与 p38 α 有许多相似之处, 如氨基酸序列非常相近, 序列比对发现这些 p38 家族成员之间有着 60% 的同源性^[27], 都包括有“TGY”双位点磷酸化模块, 并且都能被致炎因子和应激激活。此外, 研究发现 p38 家族成员在器 水 和细胞水 上的分 也有不同。例如, 虽然 p38 α 和 p38 β 在各组 均被广 的表达, 但 p38 α 主要在细胞质内; p38 β 主要定位于细胞核内。

表1 p38 家族的MAPK成员

Tab 1 Members of p38 MAPK

家族成员	其它名字	氨基酸数	mRNA大小(kb)	分子量(kD)	SB203580敏感性
p38 α	CSBP, MPK2	360	3.5	38	+
p38 β	p38-2	364	2.5	39	+
p38 γ	ERK6, SAPK3	367	1.8	43	-
p38 δ	SAPK4	366	1.2	40	-

1.2.2 p38 MAPK 的结构特征

p38 亚族的所有成员都具有“TGY”双位点磷酸化模块。这三肽模块位于蛋白激酶 和 结构域之间, 这一区域在三维结构上定 为 “T 结构”, 又称为 “L12 结构”。T 是一个接近激活位点的表面 结构, 常被形象的称为“磷酸化唇”或“激活唇”, 被认为是决定各种 MAPK 激酶活性的关键结构, 在调节蛋白激酶激活或失活的状态中起着非常重要的作用。不同的 MAPK 除了双磷酸

化位点之间中的 X 氨基酸不同之外，其 T 的长度也不同^[28]。

p38 α 的晶体结构显示，在 p38 α 的另一侧存在一个 ATP 槽，是 ATP 的结合区域。SB203580 是 p38 α 的特异性抑制，在研究和临床上被广泛的应用，它是 ATP 的类似物，能够和 ATP 竞争 ATP 槽，使 p38 α 不能和 ATP 结合而失活，也无法磷酸化其底物。

1.2.3 p38 信号通路的调节

1.2.3.1 胞外刺激物

p38 的同源体已在低等和高等真核生物中被克隆出来，在酵母中，该通路与性调节有关，受胞外刺激以及细胞周期调控。而哺乳动物的 p38 也能被力激活来调节其活性。同时，p38 的调节还与炎症反应有关，研究发现胞外刺激物、致炎症细胞因子、细胞外高渗以及细菌病原体及其产物等都能激活 p38 通路。研究表明当受到胞外刺激物、肿瘤坏死因子、IL-1 等刺激时通过一个蛋白激酶级联反应，p38 将底物分子量热休克蛋白磷酸化，从而引起一系列的生理生化反应^[27]。如此多的激活物恰恰说明了 p38 信号通路的复杂性，而且还有研究表明 p38 α 的激活不仅与刺激有关，还取决于不同的细胞类型。例如，胰岛素在 3T3-L1 脂细胞中可以激活 p38 α ^[30]，而在前脂肪细胞中却下调 p38 α 的活性^[31]。而对 p38 家族其他三个亚型的活化的研究报道还很少，只知道这一个亚型在动力学和激活水平上不同，但也可能它们的激活机制比较相近。

1.2.3.2 p38 的上游蛋白

MAPK 链式激酶反应信息传递的共同特征是：细胞受到刺激后通过某种中间调节使 MAPKKK 激活，转而激活 MAPKK；MAPKK 激活后转通过双位点磷酸化调控 MAPK 的活性，p38 MAPK 通路也不例外。

1.2.3.2.1 MAPKK

MKK3 和 MKK6 是公认的 p38 的上游激酶。JNK 的上游激酶 MKK4 在一些特殊细胞中也能帮助 p38 α 和 p38 δ 的活化^[32]，这表明 p38 的亚型还能够被不同 MAPK 通路中的上游因子调控。在此还需特别指出的是存在一种不需要 MAPKK 激活的 p38 MAPK 活化机制，即由 TAB1 参与完成的。虽然在 LPS，

TNF 和 CpG 处理后的 B 细胞中的 p38 α 磷酸化表现出对 TAB1 依赖性，而在没有 MKK3/6 调节的 MEF 细胞中 TNF 则不能引起 p38 α 的磷酸化，即这细胞是只依赖于经典的 MAPK 三级激酶途径的^[33]。这种多样性说明不同细胞在不同的生理和病理情况下，其 p38 的激活机制也情况各异。

1.2.3.2.2 MAPKKK

MKK3/6 可被 MEKK5 激活，由此确定了下述信号转导路 MEKK5 \rightarrow MKK3/6 \rightarrow p38。除 MEKK5 之外，其他调节 p38 活性 MAPKKK 类，可能包括 TAK、ASK、MLK3 和 DAK^[27]。这些 MAPKKK 的过量表达可以使 p38 和 JNK 通路激活，也就解释了为什么这两条途径中的激酶有时可以相互活化。另外，Rho 家族的小分子量 GTP 结合蛋白如 Rac1 和 Cdc42 也能作为 MAPKK 的上游激酶激活 p38^[34, 35]。Rac1 能与 MEKK1 或 MLK1 结合，而 Cdc42 只能与 MLK1 结合，但它们均通过三级激酶途径来实现激活 p38 的目的^[36, 37]。PAKs (p21-activated kinases, p21 激活的激酶家族)也是 p38 的激活物，体外实验表明 PAK1、PAK2、PAK3 能通过与 Cdc42 及 Rac 结合而被活化^[35, 38, 39]。

1.2.3.2.3 负调控

当接受外界信号刺激，细胞内信号通路中的蛋白被磷酸化而激活，从而行它所行使的功能后，这个完成了任务的蛋白就必然要恢复到它原来的磷酸化状态已备再次接受信号，继续一次的活化。因而，被磷酸化了的蛋白在它完成任务后很快就会被细胞中的其他磷酸酶类磷酸化。磷酸化和去磷酸化是细胞信号通路中并存的一个过程，它们协同合作才能保证细胞信号通路的正常工作，完成调控。

特异的 MAPK 激酶磷酸化 MAPK 激活唇的双位点，即酪氨酸和苏氨酸残基，激活 MAPK。而当这两个磷酸化位点被各种各样的酪氨酸磷酸酶和/或双特异的 MAPK 磷酸酶 (MAP kinase phosphatase family, MKPs) 磷酸化时，MAPK 则被活化^[40-42]。p38 α 和 p38 β 基本上都能被 MKP 家族磷酸化^[43, 44]，而 p38 γ 、p38 δ 却不行。另外还有一种磷酸酶 PP2C (Ser/Thr protein phosphatase type 2C, 丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2C)，它不仅能够下调酵母中的 HOG1 途径，还能够在体外和体内调控人的 MKK6 和 MKK4 的水^[45-48]。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库